Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 3, Fall 2022, p. 305-317

The Effect of Seed Treatment and Foliar Spray with Ellagic Acid on Physiological Traits of Plants Soybean under Accelerated Aging

S. Arab[1], M. Baradaran Firouzabadi[2*], A. Gholami[2], M. Haydari[2]

Received: 26-12-2021 Revised: 13-02-2022 Accepted: 05-03-2022	**How to cite this article:** Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M., Gholami, A., and Haydari, M. 2022. The Effect of Seed Treatment and Foliar Spray with Ellagic Acid on Physiological Traits of Plants Soybean under Accelerated Aging. Iranian Journal of Field Crops Research 20 (3): 305-317. (in Persian with English abstract). DOI: 10.22067/jcesc.2022.74387.1131.

Introduction

Aging seed can be defined as loss of seed quality, viability and vigor. This process is irreversible over time and its intensity increases with increasing temperature and humidity. Aging seed is one of the major factors reducing quality and quantity in the agricultural sector, especially oilseeds. The use of antioxidants can reduce the damaging effects of aging. Ellagic acid is a natural plant antioxidant that can play a role in reducing the effects of stress on plants. This substance is a phenolic compound and among different antioxidants, due to its polyphenolic properties, it is one of the best scavengers for oxygen free radicals.

Materials and Methods

To investigate the effect of ellagic acid on improving the quality of plants obtained from normal and aged soybean seeds, an experiment was conducted in the research farm of Shahroud University of Technology during the two cropping years 2019 and 2020. In this study two sets of seeds including control seeds (un-aged) and aged seed were used and ellagic acid (50 mg. l^{-1}) was applied for control, seed pretreatment, foliar spray and seed pretreatment+foliar spray. Farm research was conducted a factorial experiment based on a randomized complete block design (RCBD) in three replications. Soybean seeds var. DPX were collected from Mazandaran agricultural research center. The water content of seeds was 12%. The seeds were those that harvested in the same year and kept in a controlled storage room at the temperature between 14 to 17 °C and relative humidity of 30 to 40% at the Agricultural Research and Training Center and Natural Resources of Mazandaran Province. To prepare aged seeds in the laboratory, the seeds were incubated at 41°C and 95% relative humidity for 72 hours. Seed pretreatment with a concentration of 50 mg.L^{-1} ellagic acid was performed under ventilation condition for 6 hours. The seeds were then dried in the shade and used to continue testing and measuring traits compared to normal seeds. Foliar application was done early in the morning at the beginning of flowering (R1) and in favorable environmental conditions.

Results and Discussion

The results showed that aging reduced the mean daily seedling field emergence by 61.39% compared to normal seeds. The ratio of chlorophyll a to b, total chlorophyll, stomatal conductance and membrane stability index in the leaves of plants from aged seeds decreased by 9.9, 6.3, 7.0 and 28.9%, respectively, compared to the control. The amount of free amino acids and soluble sugars in the leaves of plants from aged seeds increased compared to normal seeds. Pretreatment of normal and aged seeds with ellagic acid increased the mean daily seedling field emergence by 23.1% and 19. 7%, respectively. The content of insoluble sugars were increased with application of both pretreatment and foliar spray of ellagic acid 32.0% respectively. The highest oil yield in both conditions was observed with application of both pretreatment and foliar spray of ellagic aicd. The yield seed increased with ellagic acid compared to the control 23.6%. Grain yield was higher than 23.2% in the plants that had received ellagic acid in a form foliar spray. In the end, the pretreatment+foliar spray of ellagic acid had

1- Ph D. Student of Agronomy, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
2- Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.baradaran.f@gmail.com)
DOI: 10.22067/jcesc.2022.74387.1131

the highest grain yield, which increased to control 55.5%.

Conclusion

However, in this study, the application of ellagic acid as a seed pretreatment and foliar spray had a positive effect under normal and aging conditions, but in the scope of the research, the combined application of ellagic acid as seed pretreatment and foliar spraying can be recommended to increase seed yield and seed oil yield in soybean. In general, ellagic acid can be introduced as a powerful antioxidant in aging conditions to reduce some of the destructive effects of the reactions involved in aging.

Keywords: Antioxidant, Grain yield, Seedling emergence

نشریه پژوهشهای زراعی ایران

Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص ۳۱۷-۳۰۵

اثر تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید الاژیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه سویا در شرایط تسریع پیری

صفیه عرب[۱]، مهدی برادران فیروزآبادی[۲*]، احمد غلامی[۲]، مصطفی حیدری[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴

چکیده

اسید الاژیک، آنتی‌اکسیدانی گیاهی و طبیعی است که در کاهش اثرات تنش‌ها در گیاهان مؤثر است. جهت بررسی تأثیر اسید الاژیک بر بهبود کیفیت گیاهان حاصل از بذرهای غیر فرسوده و فرسوده سویا آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود طی دو سال زراعی ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تسریع پیری بذور در دو سطح (بذور غیر فرسوده و بذور فرسوده) و اسید الاژیک در چهار سطح (شاهد، پیش‌تیمار بذری، محلول‌پاشی، کاربرد توأم پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند که در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شدند. نتایج نشان داد تسریع پیری بذور موجب کاهش میانگین ظهور روزانه گیاهچه در مزرعه به میزان ۶۱/۳ درصد نسبت به بذور غیر فرسوده شد. پیش‌تیمار بذور غیر فرسوده و فرسوده با اسید الاژیک به‌ترتیب موجب افزایش ۲۳/۱ و ۱۹/۶ درصدی میانگین ظهور روزانه گیاهچه شد. کاربرد توأم پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی اسید الاژیک در شرایط تسریع پیری موجب افزایش میزان قندهای نامحلول موجود در برگ‌های سویا به میزان ۳۲/۰ درصد نسبت به عدم کاربرد این ماده در این شرایط شد. پیش‌تیمار بذر، محلول‌پاشی و کاربرد توأم پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با اسید الاژیک به‌ترتیب موجب افزایش ۲۳/۶، ۲۳/۲ و ۵۵/۵ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شدند. در نهایت در محدوده پژوهش انجام شده می‌توان کاربرد توأم اسید الاژیک به‌صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی را جهت افزایش عملکرد دانه و عملکرد روغن دانه در گیاه سویا توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، سرعت ظهور گیاهچه، عملکرد دانه

مقدمه

به‌دلیل شرایط نگهداری نامناسب پس از برداشت، کیفیت بذر در طی انبارداری کاهش می‌یابد (Sheidaei *et al.*, 2019). رطوبت و دما از عوامل مهم در شرایط انبارداری هستند که بالا بودن این دو مورد موجب افزایش پیری بذور می‌شود. زمانی که بذرها در طی انبارداری فرسوده می‌شوند، بنیه خود را از دست داده و سرانجام قادر به جوانه‌زنی نمی‌شوند (Kapoor *et al.*, 2010). محتوای رطوبت بذر از مهم‌ترین عوامل پراکسیداسیون لیپیدها در بذور به‌ویژه بذور روغنی از جمله سویا گزارش شده است که منجر به تسریع پیری بذر و کاهش کیفیت آن می‌شود (Sadeghi *et al.*, 2014). نتایج تحقیقات نشان داده است که تسریع پیری بذر موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین ظهور گیاهچه، شاخص بنیه بذر و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید و نشت مواد در گیاه سویا (*Glycine max*) (Nazari *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2021; Weerasekara *et al.*, 2021). لذا یافتن راهکاری کارآمد جهت کاهش آثار منفی ناشی از بذوری که به هر دلیل دچار فرسودگی شده‌اند، ضرورت دارد.

پیش‌تیمار بذر با مواد آنتی‌اکسیدان از جمله روش‌هایی است که می‌توانند برای مقابله با اثرات نامطلوب تنش‌ها استفاده شود (Marthandan *et al.*, 2020). از جمله موادی که در کاهش اثرات تنش‌ها از جمله فرسودگی در بذر ایفای نقش می‌کند، اسید الاژیک است. اسید الاژیک[۳] ترکیبی فنولی با فرمول شیمیایی $C_{14}H_6O_8$، به‌صورت پودری خاکی رنگ با وزن مولکولی ۳۰۲/۱ گرم بر مول

۱- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۲- دانشیار زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

(*- نویسنده مسئول: (Emial: m.baradaran.f@gmail.com

DOI: 10.22067/jcesc.2022.74387.1131

3- Ellagic acid

مـی‌باشـد. ایـن مـاده شـامل ۴ گـروه OH آزاد و دو گـروه آسیلوکسی[4] متصل به هسته حلقه‌های آروماتیک تشکیل شـده اسـت (Evtyugin *et al.*, 2020). این ماده در گیاهان به شکل تـانن‌هـای قابل هیدرولیز که الاژیتانن نامیده می‌شوند، دیده می‌شود (Debnath *et al.*, 2021). الاژیتانن‌ها ترکیبات ساختاری دیواره سـلولی و غشـاء سلولی را تشکیل می‌دهند و به‌صورت استرهای گلوکز با اسید الاژیک دیده می‌شوند. اسید الاژیک آنتی‌اکسیدانی گیـاهی طبیعـی و بـالقوه است که در بیشتر میوه‌هـا، دانـه‌هـا و سـبزیجات شـامل چـای سـبز (*Camellia sinensis*) و دیگر منابع طبیعی از جملـه انـار (*Punica granatum*)، تـوت فرنگـی (*Fragaria ananassa*)، شـاه‌تـوت (*Morus nigra*)، گـردو (*Juglans regia*)، انبـه (*Mangifera indica*) و پوست اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) وجود دارد (Leonardo *et al.*, 2011). در بین آنتی‌اکسیدان‌هـای مختلـف، اسید الاژیک با توجه به خصوصیات پلی‌فنولیک آن، یکـی از بهتـرین جاروب‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد اکسـیژن اسـت. اسـید الاژیـک را بـه‌راحتـی مـی‌تـوان بـا اسـتفاده از HPLC از گیاهـان جـدا کـرد (Braunberger *et al.*, 2013). اسید الاژیک یا بـه‌طـور مسـتقیم از طریق مقابله با اثرات تخریبی تـنش اکسـیداتیو و یـا از طریـق فعـال کردن یا القای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی سـلول ماننـد سـوپر اکسـید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز اثرات خود را اعمال می‌نماید (Turk *et al.*, 2011). محققان گزارش کردند که اسـید الاژیـک بـه دلیل خاصیت کلاته‌کنندگی تولید گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن شـامل رادیکال سوپر اکسید و هیدروکسیل را مهار می‌کند و سلول را در برابر فرآیند پراکسیداسیون و تولید مـالون‌دی‌آلدهیـد محافظـت مـی‌کنـد و همچنین موجب افزایش فعالیت آنـزیم‌هـای آنتـی‌اکسـیدانی از جملـه کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود (Lopez and Luderer, 2004). محققان اثرات مثبت اسید الاژیک را در نخود (*Cicer arietinum*) تحت تـنش اسـمزی (Abu El Soud *et al.*, 2013)، کلزا (*Brassica napus*) در شرایط تنش شوری (Khan *et al.*, 2017) و میوه کامکوات (*Citrus japonica*) در طـی انبـارداری (Liu *et al.*, 2018) گزارش کرده‌اند.

در مقاله حاضر به بررسی اثر اسید الاژیک به‌صـورت پـیش‌تیمـار بذری و محلول‌پاشـی روی بـرگ گیاهـان بـا هـدف بهبـود بـذرهای فرسوده سویا و تقویت گیاهان حاصل از آن‌ها پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریـل در قالـب طـرح پایـه بلـوک‌هـای کامـل تصـادفی طـی دو سـال زراعـی (۱۳۹۸-۱۳۹۷ و ۱۳۹۹-۱۳۹۸) با سه تکرار در مزرعه تحقیقـاتی دانشـکده کشـاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود طراحی و اجرا شد. تیمارهای آزمایش شـامل تسریع پیری بذور در دو سطح (بذور غیر فرسـوده و بـذور فرسـوده) و اسید الاژیک در چهار سطح (صفر، پیش‌تیمار بذور، محلول‌پاشی برگی و کاربرد توأم پیش‌تیمار بـذور و محلـول‌پاشـی برگـی بـا غلظـت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بود.

عملیات کاشت سال اول در تـاریخ ۲۶ خـرداد ۱۳۹۸ و سال دوم ۲۰ خرداد ماه ۱۳۹۹ با دست و در عمق دو سـانتی‌متـری انجـام شـد. تراکم بوته در مزرعه معادل ۲۰ بوته در متر مربع بـود. نتـایج تجزیـه فیزیکوشیمیایی خاک مزرعـه در عمـق صـفر تـا ۳۰ سـانتی‌متـری و داده‌های هواشناسی منطقه در طی فصل رشد به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بذور سویا مورد آزمـایش، رقـم DPX (کتـول) بـود کـه از مرکـز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران تهیه شد. بذرهای مورد استفاده، بذرهای برداشت شده همان سال بودند کـه تـا زمان آزمایش در انبار کنتـرل شـده دارای سیسـتم خنـک‌کننـده و در محدوده دمایی ۱۴ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰ تـا ۴۰ درصد نگهداری شدند. در ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو شدند. جهت اعمال تیمار تسریع پیری، بـذور بـا قـرار گـرفتن در دمـای ۴۱ درجـه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد بـه مـدت ۷۲ سـاعت فرسـوده شدند (ISTA, 2009). پیش‌تیمار بذور با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتـر اسید الاژیک با رعایت اصول هوادهی بذر به مدت شش ساعت انجام شد. برای پیش‌تیمار کردن بذور، در هر ظرف ۵۰ عدد بذر سـویا قـرار گرفت و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰ میلی‌گـرم در لیتـر اسـید الاژیـک خیسانده شدند. پس از آن بذور در سایه خشک شـدند و جهـت ادامـه آزمایش و اندازه‌گیری صفات در مقایسه با بذور غیر فرسـوده اسـتفاده شدند. تیمار محلول‌پاشی نیز صبح زود و هنگام آغـاز گلـدهی (R1) و در شرایط مساعد محیطی انجام شد، طوری‌که برگ‌های گیـاه کـاملاً خیس شدند. به منظور بهبود جذب برگـی اسـید الاژیـک، از تریتـون X100 با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده شد. اندازه‌گیری صفات دو هفته پس از محلول‌پاشی انجام شد. اسـید الاژیـک مـورد اسـتفاده سـاخت شرکت سیگما آلدریچ آمریکا و تمامی مـواد شـیمیایی مـورد اسـتفاده مرک آلمان بود.

میانگین ظهور روزانه گیاهچـه در مزرعـه (MDE[2])، شاخصـی از سرعت و تعداد گیاهچه ظاهر شده در مزرعه، از تقسیم درصـد ظهـور نهایی گیاهچه (FEP) بر طـول دوره آزمـایش (D) طبـق رابطـه (۱) به‌دست آمد (ISTA, 2006).

4- Acyloxy

2- Mean daily Seedling field emergence

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Physico-chemical properties of the experimental soil

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	کربن آلی Organic carbon %	نیتروژن کل (N) %	فسفر (P) mg.kg^{-1}	پتاسیم (K) mg.kg^{-1}
لوم سیلتی Silty Loam	7.36	0.71	0.60	0.066	5.54	240

جدول ۲- داده‌های هواشناسی منطقه در دو سال مورد آزمایش (اداره هواشناسی استان سمنان)

Table 2- Meteorological data for the field sites during experiment (Semnan province Meteorological Office)

		بارندگی Precipitation (mm)		رطوبت نسبی Relative humidity (%)		میانگین دما Mean temperature (°C)	
ماه	Month	1398 (2018)	1399 (2019)	1398 (2018)	1399 (2019)	1398 (2018)	1399 (2019)
فروردین	April	75.8	41.4	57	67	11	9.4
اردیبهشت	May	6.8	49.5	47	60	16.2	16.3
خرداد	June	10.7	0.0	46	41	22	24.9
تیر	July	0.0	4.2	42	41	27.5	24.0
مرداد	August	0.0	16.2	42	38	25.1	25.5
شهریور	September	0.0	0.0	42	45	21.3	20.3
مهر	October	3.3	10.7	43	47	14.3	13.8
آبان	November	5.8	4.8	48	51	10.1	9.4

$$MDE = \frac{FEP}{D} \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی دو هفته پس از اعمال محلول‌پاشی (R_2) انجام گرفت. میزان کلروفیل a، b و کل با استفاده از دی‌متیل‌سولفوکسید و روش Hiscox and Israelstom (1979) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان قند محلول موجود در برگ گیاهان از روش فنل اسید سولفوریک (Bonnett and Incoll, 1992) استفاده شد. قند نامحلول با استفاده از اسید پرکلریک ($HClO_4$) اندازه‌گیری شد (Yang *et al.*, 2000). اسیدهای آمینه آزاد با استفاده از بافر استیک اسید-استات سدیم، معرف نین هیدرین و اسید آسکوربیک محاسبه و ثبت شد (Xiong *et al.*, 2006). شاخص پایداری غشاء پلاسمایی برگ‌ها از روش Barranco *et al.* (2005) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ، دو هفته پس از محلول‌پاشی، تعداد پنج بوته به‌طور تصادفی از هر کرت برداشت شد و سطح تمامی برگ‌ها، با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ مدل A3 Light box ساخت کشور انگلستان ثبت شد. هدایت روزنه‌ای نیز دو هفته پس از محلول‌پاشی روی پنج برگ که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند و با استفاده از دستگاه پرومتر[1] مدل Netherland ساخت کشور هلند اندازه‌گیری شد. درصد روغن دانه با استفاده از دستگاه سوکسله تمام اتوماتیک (Soxtherm 2000 Gerhardt automatic) و روش (Oomah *et al.* 1995) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه عملکرد روغن، درصد روغن نمونه‌ها در عملکرد دانه ضرب شد. عملکرد دانه در زمان رسیدگی کامل (R_8) همزمان با زرد شدن ۹۵ درصد نیام‌های بوته‌های مزرعه اندازه‌گیری شد. جهت ثبت عملکرد دانه تعداد بوته‌های موجود در یک مترمربع برداشت شد و در نهایت این صفت بر حسب گرم در متر مربع گزارش شد. برای داده‌های دو سال زراعی، ابتدا آزمون بارتلت انجام شد. برای صفاتی که این آزمون معنی‌دار نبود و همگنی اشتباه آزمایشی تأیید شد، تجزیه مرکب انجام شد. برای صفاتی که آزمون بارتلت معنی‌دار شد (شامل صفات نسبت کلروفیل a به b و کلروفیل کل) داده‌های هر سال به‌طور جداگانه تجزیه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت.

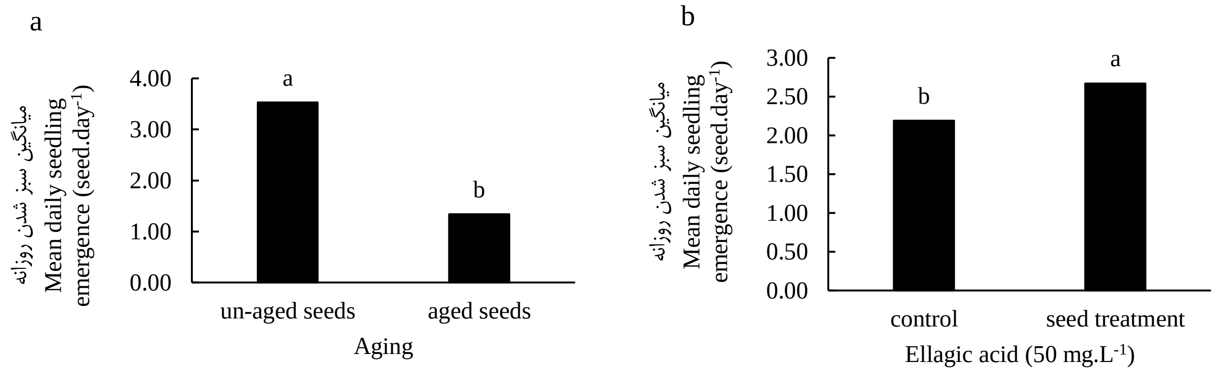
نتایج و بحث

میانگین ظهور روزانه گیاهچه

تجزیه واریانس میانگین مربعات این صفت در جدول ۳ نشان داده شده است. بررسی شکل ۱ حاکی از آن است که میانگین ظهور گیاهچه در بذوری که تسریع پیری را تجربه کرده بودند نسبت به بذور غیر فرسوده، ۶۶/۱ درصد کاهش نشان داد. پیش‌تیمار بذور با اسید الاژیک موجب افزایش ۲۱/۹ درصدی میانگین ظهور گیاهچه نسبت به عدم کاربرد این ماده شد (شکل ۱). می‌توان این‌طور بیان

1- Prometer

کرد که بذرهای فرسوده شده در این پژوهش، به دلیل کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب در دیواه سلولی در جذب آب دچار مشکل شده و از این رو جوانه‌زنی کاهش یافته است. کاهش کارایی مصرف مواد ذخیره‌ای بذر و در نتیجه کاهش در انتقال مواد غذایی به محور جنینی و کاهش در رشد سلولی محور جنینی در شرایط تسریع پیری می‌تواند موجب کاهش جوانه‌زنی شده باشد و اعمال پیش‌تیمار می‌تواند تا حدودی سبب افزایش در مصرف مواد غذایی شده و از این طریق میانگین ظهور گیاهچه را افزایش دهد. در توافق با نتایج به‌دست آمده، تحقیقات محققان دیگر نیز نشان می‌دهد که تسریع پیری بذر منجر به کاهش درصد ظهور گیاهچه نهایی و میانگین ظهور گیاهچه در سویا می‌شود (Weerasekara *et al*., 2021; Mangena *et al*., 2021; Oliveira *et al*., 2021). محققان اسید الاژیک را به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاه دانسته و اعلام کردند که این ماده موجب افزایش درصد ظهور گیاهچه در مزرعه می‌گردد (Pari and Sivasankari, 2008).



شکل ۱- تأثیر تسریع پیری (a) و پیش‌تیمار بذور با اسید الاژیک (b) بر میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه
بذور غیر فرسوده: un-aged seeds، بذور فرسوده: aged seeds

Figure 1- Effect of aging seed (a) and seed pretreatment of ellagic acid (b) on mean daily seedling emergence

جدول ۳- تجزیه واریانس میانگین مربعات ظهور گیاهچه (MDE)، شاخص پایداری غشا (MS)، شاخص سطح برگ (LAI)، میزان قندهای محلول (soluble sugar)، میزان قندهای نامحلول (insoluble sugar)، میزان اسیدهای آمینه آزاد (free aminoacids)، هدایت روزنه‌ای (SC)، عملکرد روغن (oil yield) و عملکرد دانه (grain yield) تحت تأثیر تسریع پیری و اسید الاژیک در مزرعه سویا (تجزیه مرکب)

Table 3- Variance analysis of mean squares of mean daily seedling field emergence (MDE), membrane stability index (MS), LAI, soluble sugar, insoluble sugar, free aminoacids, stomatal conductance (SC), oil yield and seed yield under aging and ellagic acid on field of soybean

منابع تغییر S.O.V	df	MDE	MS	LAI	Soluble sugar	Insoluble sugar	Free aminoacids	SC	Oil yield	Grain yield
Year سال	1	0.32ns	0.11 ns	0.54ns	5115.25ns	782.79 ns	716.47 ns	4307.35ns	329.93ns	9776.66ns
خطای اول Error 1	4	0.08	7.59	0.46	463.59	190.94	512.92	0.25	729.62	19466.40
تسریع پیری (a) Aging	1	28.73*	296.78ns	10.84ns	58671.74ns	1175.16 **	15950.19**	1468.53*	5703.55ns	122974.40ns
اسید الاژیک (b) Ellagic acid	3	1.40*	29.58ns	0.67ns	2338.74ns	1560.74**	953.02 ns	157.49 ns	726.24*	17424.00*
a*b	3	0.35ns	18.06ns	0.44ns	810.66 ns	2197.72**	708.72 ns	86.50 ns	177.36ns	4381.76 ns
y*a	1	0.04ns	5.49 ns	0.64ns	924.30 ns	6.73E-29ns	2.81 ns	416.34 ns	539.49*	14406.43*
y*b	3	0.01 ns	9.25 ns	0.26 ns	1880.30ns	1.03E-28 ns	136.27 ns	188.97 ns	24.95 ns	710.71 ns
y*a*b	3	0.10ns	4.70 ns	0.30 ns	1185.68 ns	4.34E-28 ns	185.93 ns	8.13 ns	50.46 ns	1215.08 ns
Error خطا	28	0.01	3.53	0.10	492.98	366.50	401.15	160.65	56.90	1546.40
ضریب تغییرات C.V (%)	-	5.8	7.8	12.7	9.5	13.3	10.7	8.3	18.3	18.7

ns، * و **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: nonsignificant, significant in 5% and 1% respectively.

رنگدانه‌های فتوسنتزی (نسبت کلروفیل a به b و کلروفیل کل)

تجزیه واریانس رنگدانه‌های فتوسنتزی در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ در جدول ۴ گزارش شده است. تجزیه ساده این صفات در سال ۱۳۹۸ نشان داد که در گیاهان حاصل از بذور فرسوده که اسید الاژیک را دریافت نکرده بودند، نسبت کلروفیل a به b، به میزان ۱۸/۴ درصد نسبت به شرایط غیر فرسوده کاهش نشان داد (شکل ۲). استفاده از اسید الاژیک در شرایط غیر فرسوده، اختلاف معنی‌داری بر این صفت نشان نداد و این در حالی بود که در شرایط اعمال تسریع پیری، استفاده از اسید الاژیک به‌صورت پیش‌تیمار بذری و کاربرد توأم پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی برگی، موجب افزایش معنی‌دار این صفت شد. نکته قابل توجه این بود که استفاده از پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی برگی اسید الاژیک در شرایط تسریع پیری، نسبت کلروفیل a به b را تا سطح گیاهان حاصل از بذور غیر فرسوده افزایش داد (شکل ۲). در این سال، کلروفیل کل حاصل از بذور فرسوده به میزان ۶/۲ درصد نسبت به شرایط غیر فرسوده کاهش نشان داد (جدول ۵).

بررسی رنگدانه‌های فتوسنتزی در سال دوم آزمایش (۱۳۹۹) بیان‌گر این بود که نسبت کلروفیل a به b، با اعمال تسریع پیری کاهش معنی‌دار نشان داد و این نسبت از ۱/۱ به ۱/۰ کاهش پیدا کرد (جدول ۵). گیاهانی که اسید الاژیک را به‌صورت محلول‌پاشی و هم‌چنین ترکیب توأم پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی دریافت کرده بودند، میزان بالاتری از این صفت را به خود اختصاص دادند و به‌ترتیب موجب افزایش ۴۵/۳ و ۳۸/۳ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند (جدول ۵). در شرایط اعمال تسریع پیری، میزان کلروفیل کل از ۵/۸ در گیاهان شاهد به ۵/۴ کاهش نشان داد (جدول ۵). استفاده از اسید الاژیک به شکل پیش‌تیمار بذری، محلول‌پاشی و ترکیب توأم این دو سطح موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل شد و در این بین دو سطح پیش‌تیمار و ترکیب توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی، در بالاترین سطح قرار گرفتند (جدول ۵).

در این پژوهش، تسریع پیری بذر سبب کاهش در فعالیت کلروفیل a شد، بنابراین نسبت کلروفیل a به b نیز کاهش نشان داد. دلیل این کاهش می‌تواند تخریب کلروفیل به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن شامل پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپر اکسید باشد. کاهش مقدار کلروفیل به دلیل تسریع پیری بذر در گیاه سویا (Saha and Sultana, 2008) و آفتابگردان (*Helianthus annuus*) (Taji *et al*., 2014) گزارش شده است. در این پژوهش کلروفیل a از کلروفیل b حساس‌تر بود. مشابه این نتایج را محققان دیگر نیز گزارش کرده‌اند (Motacefi *et al*., 2021; Kalali *et al*., 2015).

استفاده از اسید الاژیک احتمالاً از طریق کاهش تولید این گونه‌های مخرب اکسیژن توانسته است از کاهش کلروفیل جلوگیری کند. در راستای تحقیق حاضر، محققان دیگر دریافتند که پیش‌تیمار بذور کلزا با اسید الاژیک موجب افزایش میزان کلروفیل کل این گیاه در شرایط تنش شوری شد (Khan *et al*., 2017).

جدول ٤- تجزیه واریانس میانگین مربعات نسبت کلروفیل a به b (Chl_a/Chl_b) و کلروفیل کل (Chl_{total}) تحت تأثیر تسریع پیری و اسید الاژیک در مزرعه سویا (تجزیه جداگانه سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹)

Table 4- Variance analysis of mean squares of Chl_a/Chl_b and Chl_{total} under aging and ellagic acid on field of soybean (2018 and 2019)

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	Chl_a/Chl_b	Chl_{total}	Chl_a/Chl_b	Chl_{total}
		(2018)		(2019)	
Replication تکرار	2	0.005	0.0005	0.08	0.53
Aging (a) زوال	1	0.01 ns	0.96*	0.08**	0.54 ns
اسید الاژیک (b) Ellagic acid	3	0.002	0.35 ns	0.22**	1.48**
a*b	3	0.011*	0.04 ns	0.001 ns	0.29 ns
Error خطای	14	0.002	0.16	0.009	0.12
C.V (%) ضریب تغییرات	-	7.3	6.6	9.0	6.1

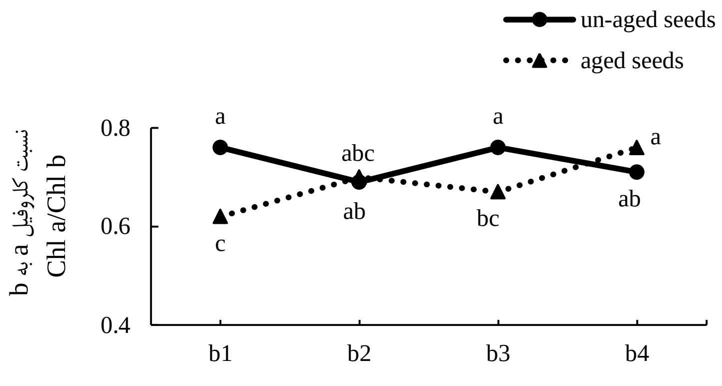
ns، * و ** به‌ترتیب: عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: nonsignificant, significant in 5% and 1% respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات اصلی تسریع پیری و اسید الاژیک بر کلروفیل کل (Chl_{total}) در سال ۱۳۹۸، نسبت کلروفیل a به b (Chla/Chlb) و کلروفیل کل در سال ۱۳۹۹ در برگ سویا (تجزیه ساده سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹)

Table 5- Mean comparison of aging seeds and ellagic acid on total chlorophyll in 2018, Chl_a/Chl_b, total chlorophyll (Chl_{total}) of leaves in 2019 of soybean leaves

Treatments تیمارها	Chl_{total} (2018) (mg. g $^{-1}$ Fw)	Chla/Chlb (2019)	Chl_{total} (2019) (mg. g $^{-1}$ Fw)
Aging تسریع پیری			
Un-aged seeds بذور غیر فرسوده	6.39	1.11	5.86
Aged seeds بذور فرسوده	5.99	1.00	5.48
LSD 5%	0.359	0.083	0.303
Ellagic acid اسید الاژیک			
Control شاهد	5.83	0.86	5.09
Pretreatment پیش‌تیمار	6.37	0.92	6.01
Foliar spray محلول‌پاشی	6.28	1.25	5.53
پیش‌تیمار+محلول‌پاشی Pretreatment+ foliar spray	6.28	1.19	6.20
LSD 5%	0.507	0.117	0.429



شکل ۲- تأثیر برهمکنش تسریع پیری بذور و اسید الاژیک بر نسبت کلروفیل a به b در برگ‌های سویا در سال ۱۳۹۸ (بذور غیر فرسوده: un-aged seeds، بذور فرسوده: aged seeds)

Figure 2- Effect of aging seed and ellagic acid on the Chl_a/Chl_b of leaves in soybean in 2019. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray

هدایت روزنه‌ای

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، هدایت روزنه‌ای در این پژوهش تنها تحت تأثیر تسریع پیری در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت. مقایسات میانگین هدایت روزنه‌ای برگ‌ها نشان داد که هدایت روزنه‌ای در برگ گیاهان حاصل از بذور فرسوده به میزان ۶۹/۹ میلی مول دی‌اکسید کربن در متر مربع در ثانیه نسبت به گیاهان غیر فرسوده کاهش نشان داد (جدول ۶). یکی از عوامل محدودکننده فتوسنتز در گیاهان، عوامل روزنه‌ای است که منجر به کاهش انتشار دی‌اکسید کربن به فضای بین سلولی در اثر کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Bagheri *et al*., 2014). در راستای این تحقیق، محققان گزارش کردند که تسریع پیری بذر سویا موجب کاهش هدایت روزنه‌ای در برگ‌های گیاه می‌گردد (Arab *et al*., 2021).

اسیدهای آمینه آزاد

تجزیه مرکب داده‌های دو سال نشان داد که اسیدهای آمینه آزاد برگ تنها تحت تأثیر تسریع پیری قرار گرفت. اعمال تسریع پیری موجب افزایش ۱۷/۷ درصدی این صفت در برگ گیاهان شد (جدول ۶). دلیل افزایش اسیدهای آمینه آزاد در گیاهان حاصل از بذور فرسوده را می‌توان ویژگی اسمولیتی این ترکیبات به منظور جاروب

کردن رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش‌های تسریع پیری دانست. ممکن است به دلیل تسریع پیری، چرخه تولید پروتئین دچار اختلال شده باشد و اسیدهای آمینه در تولید پروتئین مورد استفاده قرار نگرفته باشند. هم‌چنین ممکن است پروتئین ها تخریب شده باشند (Nazari *et al*., 2020).

مشابه این نتایج را برخی پژوهشگران در لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata*) تحت پیری تسریع شده گزارش کردند (Akbari *et al*., 2019).

قندهای محلول و نامحلول

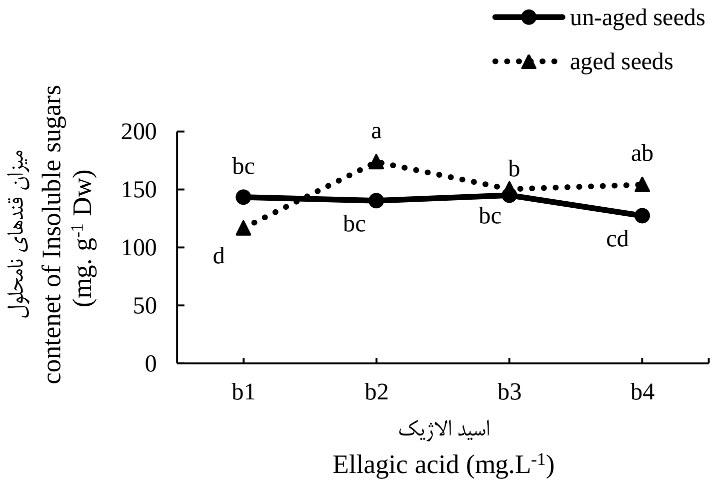
قندهای محلول از تیمارهای آزمایش تأثیر نپذیرفت. این در حالی بود که تسریع پیری، اسید الاژیک و اثر متقابل این دو عامل در سطح یک درصد بر میزان قندهای نامحلول مؤثر واقع شد (جدول ۳).

اعمال تسریع پیری در گیاهانی که اسید الاژیک را دریافت نکرده بودند (عدم پیش‌تیمار و عدم محلول‌پاشی)، موجب کاهش ۱۸/۴ درصدی قندهای نامحلول موجود در برگ نسبت به شرایط غیر فرسوده شد (شکل ۳).

جدول ٦- مقایسه میانگین اثرات اصلی تسریع پیری و اسید الاژیک بر هدایت روزنه‌ای، اسیدهای آمینه آزاد و عملکرد دانه سویا

Table 6- Mean comparison of aging seeds and ellagic acid on Stomatal conductance, free aminoacids and grain yield in soybean

Treatments تیمارها	هدایت روزنه‌ای stomatal conductance	اسیدهای آمینه آزاد free aminoacids	عملکرد روغن oil yield	عملکرد دانه grain yield
Aging تسریع پیری	mmol CO_2. m^{-2}. S^{-1}	µg. g^{-1} Fw	$g.m^{-2}$	$g.m^{-2}$
Un-aged seeds بذور غیر فرسوده	157.86	169.50	-	-
Aged seeds بذور فرسوده	146.80	205.96	-	-
LSD 5%	7.495	11.844	-	-
Ellagic acid اسید الاژیک				
Control شاهد	-	-	32.46	167.21
Pre-treatment پیش‌تیمار	-	-	40.66	206.66
Foliar spray محلول‌پاشی	-	-	40.53	206.06
پیش‌تیمار+محلول‌پاشی Pre-treatment+ foliar spray	-	-	51.42	259.99
LSD 5%	-	-	6.30	32.885



شکل ۳- تأثیر برهمکنش تسریع پیری بذور و اسید الاژیک بر میزان قندهای نامحلول در برگ‌های سویا (بذور غیر فرسوده: un-aged seeds، بذور فرسوده: aged seeds)

Figure 3- Effect of aging seeds and ellagic acid on content of insoluble sugars of leaves in soybean. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray

کاربرد اسید الاژیک در شرایط غیر فرسوده اختلافی با شاهد از لحاظ میزان قندهای نامحلول نشان نداد. این در حالی است که در شرایط تسریع پیری، استفاده از هر سه سطح اسید الاژیک موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به عدم کاربرد این ماده در این شرایط شد. تحقیقات نشان داده است که قندها جزئی از محافظان اسمزی هستند و در پاسخ به تنش‌ها تجمع می‌یابند. محققان دریافتند که قندها با افزایش فشار اسمزی، نگه‌داری تورژسانس، پایداری غشاءها و پروتئین‌ها به گیاه کمک می‌کنند (Movahhedi Dehnavi *et al*., 2017).

شاخص پایداری غشاء و شاخص سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شاخص پایداری غشاء و شاخص سطح برگ از هیچ‌یک از تیمارهای آزمایش تأثیر نپذیرفت (جدول ۳).

عملکرد روغن

کاربرد اسید الاژیک و اثر متقابل سال و تسریع پیری در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد روغن تأثیر گذاشتند (جدول ۳). نتایج جدول ۶ نشان داد که کاربرد اسید الاژیک موجب افزایش عملکرد روغن نسبت به شاهد گردید. کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی با این ماده بالاترین میزان عملکرد روغن را که معادل ۵۱/۴ گرم در متر مربع بود، به خود اختصاص داد.

تسریع پیری در هر دو سال آزمایش موجب کاهش معنی‌دار عملکرد روغن شد. کاهش عملکرد روغن در اثر تسریع پیری در سال اول و دوم آزمایش به‌ترتیب ۱۵/۱ و ۱۸/۵ گرم در متر مربع نسبت به گیاهان شاهد همان سال بود (جدول ۷).

کاهش میزان روغن در شرایط تسریع پیری در این پژوهش احتمالاً با کاهش سطح برگ، کاهش میزان کلروفیل و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی ارتباط دارد. با توجه به این‌که کلروفیل گیاهان حاصل از بذور فرسوده نیز کاهش یافته است (جدول ۶)، احتمال می‌رود در ساختار کلروپلاست گیاهان حاصله اختلال به‌وجود آمده باشد و از آن‌جا که بیوسنتز اسیدهای چرب در کلروپلاست و پلاستیدها صورت می‌گیرد بنابراین کاهش معنی‌داری در عملکرد روغن مشاهده شد. از آن‌جا که انرژی لازم برای ساختن روغن بسیار بیشتر از انرژی لازم برای ساختن کربوهیدرات‌ها است، گیاه در هنگام کاهش مواد فتوسنتزی میزان کمتری از این مواد را به ساختن روغن اختصاص می‌دهد و موجب کاهش درصد روغن در بذر می‌شود (Verma *et al*., 2005). در راستای این تحقیق محققان دیگر در سویا (Rahimi *et al*., 2014) و گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) (Onder *et al*., 2020) گزارش کردند که تسریع پیری موجب کاهش عملکرد روغن در بذر گیاهان حاصل از آن‌ها شد. راجع به تأثیر اسید الاژیک بر میزان روغن گزارشی یافت نشد.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل سال و تسریع پیری بر عملکرد روغن و عملکرد دانه سویا (y1a1: سال اول*بذور غیر فرسوده، y1a2: سال اول*بذور فرسوده، y2a1: سال دوم* بذور غیر فرسوده و y2a2: سال دوم*بذور فرسوده)

Table 7- Mean comparison of interaction of year and aging seeds on oil yield and grain yield in soybean (y1a1: un-aged seeds in 2018, y1a2: aged seeds in 2018, y2a1: un-aged seeds in 2019 and y2a2: aged seeds in 2019)

تیمارها Treatments	عملکرد روغن Oil yield ($g.m^{-2}$)	عملکرد دانه Geain yield ($g.m^{-2}$)
y1a1	51.44	257.54
y1a2	36.34	190.96
y2a1	52.90	263.65
y2a2	34.39	187.76
LSD 5%	6.308	32.890

عملکرد دانه

بررسی اثرات اصلی اسید الاژیک بر عملکرد دانه در جدول ۶ آورده شده است. نتایج این جدول حاکی از آن است که کاربرد هر سه سطح مورد استفاده اسید الاژیک در این پژوهش موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه نسبت به گیاهان شاهد شد. پیش‌تیمار بذور با اسید الاژیک موجب افزایش ۲۳/۵ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شد. گیاهانی که اسید الاژیک را به‌صورت محلول‌پاشی برگی دریافت کرده بودند، افزایش عملکردی معادل ۲۳/۲ را نسبت به شاهد نشان دادند. در نهایت کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی این ماده، بالاترین عملکرد دانه را که معادل ۲۵۹۹/۹ گرم در متر مربع بود به خود اختصاص داد که نسبت به شاهد ۵۵/۴ درصد افزایش داشت (جدول ۶). بررسی اثرات متقابل سال و تسریع پیری نیز نشان داد که در هر دو سال مورد آزمایش، گیاهانی که از بذور فرسوده حاصل شده بودند، عملکرد دانه کمتری را نسبت به شرایط غیر فرسوده نشان دادند. این کاهش عملکرد دانه در سال اول ۲۵/۸ درصد و در سال

دوم ۲۸/۷ درصد نسبت به گیاهان شاهد همان سال بود (جدول ۷). تسریع پیری بذر احتمالاً از طریق کاهش میانگین ظهور گیاهچه نهایی مزرعه (شکل ۱) و هدایت روزنه‌ای (جدول ۶) موجب کاهش عملکرد دانه شده است. در مقابل کاربرد اسید الاژیک احتمالاً با افزایش میانگین ظهور گیاهچه نهایی موجب افزایش عملکرد دانه شده است. در توافق با نتایج این پژوهش، محققان در تحقیقی نشان دادند که اسید الاژیک به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی که دارد، سبب افزایش عملکرد در کلزا می‌گردد (Khan *et al*., 2017).

تجزیه علیت

برای تعیین سهم اثرهای مستقیم و غیر مستقیم متغیرها بر عملکرد دانه از تجزیه علیت استفاده شد. جدول ۸ بیانگر این است که زمانی که عملکرد دانه به‌عنوان صفت وابسته در نظر گرفته شد میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (۰/۶۲)، شاخص پایداری غشاء (۰/۴۷)، شاخص سطح برگ (۰/۷۰)، میزان قندهای محلول (۰/۴۶-) و کلروفیل کل (۰/۴۹) به‌عنوان متغیرهای اصلی وارد مدل شدند. با توجه به میزان ضریب تبیین ۵۷/۶۳ درصد از تغییرات عملکرد دانه توسط این ۵ صفت توجیه می‌شود. بیشترین اثر مستقیم مثبت را به‌ترتیب شاخص سطح برگ (۰/۴۵) و کلروفیل کل (۰/۲۵) به خود اختصاص دادند. میزان قندهای محلول موجود در برگ، بیشترین اثر مستقیم و منفی (۰/۱۱-) را بر عملکرد دانه داشت. میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه به‌طور غیرمستقیم از طریق تأثیر بر شاخص سطح برگ بر عملکرد دانه مؤثر واقع شد. شاخص پایداری غشاء نیز از طریق تأثیر بر شاخص سطح برگ، اثر خود را بر عملکرد دانه نشان داد. کلروفیل کل هم به‌طور مستقیم و هم به‌طور غیرمستقیم از طریق تأثیر بر شاخص سطح برگ بر عملکرد دانه تأثیر گذاشت. میزان قندهای محلول موجود در برگ به‌طور غیرمستقیم از طریق تأثیر منفی بر شاخص سطح برگ و همچنین به‌طور مستقیم موجب کاهش عملکرد دانه شدند (جدول ۸).

جدول ۸- تجزیه علیت عملکرد دانه تحت تأثیر صفات میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (MDE)، شاخص پایداری غشاء (MS)، شاخص سطح برگ (LAI)، میزان قندهای محلول و کلروفیل کل (عملکرد دانه صفت وابسته است)

Table 8- Path coefficient analysis of mean daily seedling field emergence (MDE), membrane stability index *(*MS*)*, Leaf area index (LAI), content of soluble sugars and total chlorophyll traits on seed yield (seed yield is dependent trait)

Traits	MDE	MS	LAI	Soluble sugars	Chl_{total}	Total effects
MDE	**0.11**	0.003	0.32	0.08	0.09	0.625
MS	0.07	**0.005**	0.28	0.05	0.04	0.473
LAI	0.08	0.003	**0.45**	0.06	0.10	0.705
Soluble sugars	-0.08	-0.002	-0.23	**-0.11**	-0.02	-0.467
Chl_{total}	0.04	0.0009	0.18	0.01	**0.25**	0.491
R- Square	0.5763					

اعداد موجود در قطر نشان‌دهنده اثرات مستقیم و خارج از قطر نشان‌دهنده اثرات غیرمستقیم صفات بر روی عملکرد دانه می‌باشند.

Direct (Bold) and indirect effects of traits on seed yield.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که صفات مورد بررسی از قبیل میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه، هدایت روزنه‌ای، عملکرد روغن و عملکرد دانه در گیاهان حاصل از بذور فرسوده تا سطح معنی‌داری نسبت به گیاهان حاصل از بذور غیر فرسوده کاهش یافت. اعمال تسریع پیری در بذور، موجب افزایش اسیدهای آمینه آزاد موجود در برگ گیاهان حاصل از این بذور شد. کاربرد اسید الاژیک به‌صورت پیش‌تیمار بذری توانست میانگین ظهور گیاهچه را در هر دو شرایط غیر فرسوده و تسریع پیری ارتقا دهد. کاربرد اسید الاژیک هم به‌صورت پیش‌تیمار بذری و هم به‌صورت محلول‌پاشی برگی توانست اثرات تسریع پیری را بهبود دهد و سبب افزایش عملکرد روغن و عملکرد دانه در سویا شد. در مجموع نیز می‌توان اسید الاژیک را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در شرایط تسریع پیری برای کاهش برخی اثرات مخرب ناشی از واکنش‌های دخیل در تسریع پیری معرفی کرد. چنانچه اسید الاژیک از میوه‌هایی مانند انار، توت‌فرنگی و غیره استخراج گردد، کاربرد این ماده به‌صورت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در شرایط نرمال نیز صرفه اقتصادی خواهد داشت.

References

1. Abu El Soud, W., Hegab, M. M., Abdelgavad, H., Zinta, G., and Asard, H. 2013. Ability of ellagic acid to alleviate osmotic stress on chickpea seedlings. Journal of Plant Physiology and Biochemistry 71 (1): 173-183. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.07.007
2. Akbari, M., Baradaran firouzabadi, M., Amerian, M. R., and Farrokhi, N. 2019. The effect of foliar application and

seed pretreatment with cinnamic acid on physiological characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata*) aged seeds and resulting plants. PhD Dissertation, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Iran. (in Persian with English abstract).

3. Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M., Gholami, A., and Haydari, M. 2021. Physiological responses of soybean plant (DPX) to pretreatment and foliar application of seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and seed primary quality. Iranian Journal of Field Crops Research 20 (1): 105-119. (in Persian with English abstract). https://doi. 10.22067/jcesc.2021.74004.1119
4. Bagheri, H., Andalibi, B., and Azimi moghaddam, M. R. 2014. The effect of foliar application of atrazine on stomatal and nonstomatal control factors of photosynthesis in safflower in drought stress condition. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 27 (2): 168-179. (in Persian with English abstract). https://doi. 20.1001.1.23832592.1393.27.2.2.2
5. Barranco, D., Ruiz, N., and Gomes, M. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. European Journal of Horticultural Science 40: 558-560.
6. Bonnett, G. D., and Incoll, L. D. 1992. Effects on the stem of winter barley of manipulating the soucrose and sink during grain-filling1. Changes in accumulation and loss of mass from intemodes. Journal of Experimental Botany 44: 75-82. https://doi.org/10.1093/jxb/44.1.83
7. Braunberger, C., Zehl, M., Conrad, J., Fischer, S., Adhamib, H. R., Beifuss, U., and Krenn, L. 2013. C–MR, NMR, and LC–MS identification and LC– DAD quantification of flavonoids and ellagic acid derivatives in Droserapeltata. Journal of Chromatography 932: 111-116. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.06.015
8. Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., and Manna, K. 2021. Biodynamic activities of ellagic acid: A Dietary Polyphenol. Journal of Nature and Science of Medicine 3 (20): 83-90. DOI: 10.4103/JNSM.JNSM_32_19
9. Evtyugin, D., Magina, S., and Evtuguin, D. 2020. Recent advances in the production and applications of ellagic acid and its derivatives. A Review. Journal of Molecules 25: 27-45. https:// doi: 10.3390/molecules25122745
10. Hiscox, J. D., and Israelstom, G. F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany 57: 1332-1334. https://doi.org/10.1139/b79-163
11. ISTA (International Seed Testing Association). 2009. International rules for seed testing. Seed Science and Technology 49: 86-41.
12. ISTA (International Seed Testing Association). 2006. International rules for seed testing. Basserdorf, Switzerland, 379 p.
13. Kalali, T., Lahooti, M., and Mahmoodzade, H. 2015. Investigation the effect of salicylic acid on morphological and physiological traits of soybean (*Glycine max* L.) under drought tension conditions. Crop Physiology Journal. 7(25): 75-88.
14. Kapoor, R., Arya, A., Siddiqui, M. A., Amir, A., and Kumar, H. 2010. Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. Asian Journal of Plant Sciences 9 (3): 158-162. DOI: 10.3923/ajps.2010.158.162
15. Khan, A., Nazar, S., Lang, I., Nawaz, H., and Hussain, M. A. 2017. Effect of ellagic acid on growth and physiology of canola (*Brassica napus* L.) under saline conditions. Journal Plant Interaction 12 (1): 520-525. https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1400122
16. Leonardo, S., Alberto, A., Raul, R., Antonio, A., and Cristobal, N. 2011. Ellagic acid: biological properties and biotechnological development for production processes. African Journal of Biotechnology 10 (45): 18-23.
17. Liu, Y., Liu, Y., Liu, H., and Shang, Y. 2018. Evaluating effects of ellagic acid on the quality of kumquat fruits during storage. Scientia Horticulturae 227: 244-254. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.055
18. Lopez, S. G., and Luderer, U. 2004. Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine 36 (11): 1366-1377. https://doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.067.
19. Mangena, P. 2021. Analysis of correlation between seed vigour, germination and multiple shootinduction in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Heliyon 7 (1): 1-8. https://doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07913
20. Marthandan, V., Geetha, R., Kumutha, K., Renganathan, V. G., Karthikeyan, A., and Ramalingam, J. 2020. Seed priming: A feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. International Journal of Molecular Sciences 21: 58-82. https://doi: 10.3390/ijms21218258
21. Motacefi, M., Sirousmehr, A., and Mohsen Mousavi Nik, M. 2021. Effect of organic growth stimulator on yield, yield components, oil percentage, and some physiological indices of safflower under drought stress condition. Journal of Crops Improvement 23 (3): 335-348. https://doi.10.22059/JCI.2021.300601.2378
22. Movahhedi Dehnavi, M., Niknam, N., Behzadi, Y., and Mohtashami, R. 2017. Comparison of physiological responses of linseed (*Linum usitatissimum* L.) to drought and salt stress and salicylic acid foliar application. Iranian Journal of Plant Biology 9 (3): 39-62. (in Persian with English abstract).
23. Nazari, R., Parsa, S., Tavakol Afshari, R., and Mahmoodi, S. 2020. Salicylic acid priming before and after accelerated aging process increases seedling vigor in aged soybean seed. Journal of Crop Improvement 34 (2): 1-20. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.1080/15427528.2019.1710734

24. Oliveira, K. R., Sampaio, F. R., Siqueira, G. S., Galvao, I. M., Bennett, S. J., Gratao, P. L., and Barbosa, R. M. 2021. Physiological quality of soybean seeds grown under different low altitude field environments and storage time. Plant, Soil and Environment 67 (2): 92-98. https://doi.org/10.17221/512/2020-PSE
25. Onder, S., Tonguc, M., Guvercin, D., and Karakurt, Y. 2020. Biochemical changes stimulated by accelerated aging in safflower seeds (*Carthamus tinctorius* L.) Journal of Seed Science 42: 1-12. https://doi.org/10.1590/2317-1545v42227873
26. Oomah, B. D., Mazza, G., and Przyblski, R. 1995. Comparison of flaxseed meal lipids extracted with different solvent. Journal of Food Science and Technology 29: 654-658. https://doi.10.12691/jfnr-2-1-10
27. Pari, L., and Sivasankari, R. 2008. Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. Fundamental & Clinical Pharmacology 22: 395-401. https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2008.00609.x
28. Rahimi, G., Bradaran Firouzabadi, M., Makarian, H., and Gholipoor, M. 2014. The effect of seed aging and pretreatment with pyridoxine on growth and yield of soybean in weed competition. M.Sc. Thesis. Shahrood University of Technology. Iran. (in Persian with English abstract).
29. Sadeghi, H., Shaeidaei, A., Gholami, H., and Yari, L. 2014. Effect of packaging materials, storage duration and conditions on seed germination traits in laboratory and field emergence of soybean seedling. Iranian Journal of Seed Science and Research 1(1): 67-82.
30. Saha, R. R., and Sultana, W. 2008. Influence of seed ageing on growth and yield of soybean. Bangladesh Journal of Botany 37 (1): 21-26.
31. Santos, R. F., Placido, H. F., Bosche, L. L., Neto, H. Z., Ferando, H., and Alessandro, B. 2021. Accelerated aging methodologies for evaluating physiological potential of treated soybean seeds. Journal of Seed Science 43 (4): 1-10. https://doi.org/10.1590/2317-1545v43250605
32. Sheidaei, S., Hamidi, A., Sadeghi, H., Oskouei, B., and Zare, L. 2019. Impact of storage fungi on soybean seed deterioration in different storage conditions and seed moisture content. Iranian Journal of Seed Science and Technology 6 (1): 65-76. (in Persian with English abstract).
33. Taji, M., Rahemi karizaki, A., and Daneshmand khosravi, K. 2014. Effect of seed aging on emergence and morphological characteristics of sunflower cultivars (*Helianthus annus* L.). Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology 1 (4): 19-30. (in Persian with English abstract).
34. Turk, G., Ceribas, A. O., Sahna, E., and Atessahin, A. 2011. Lycopene and ellagic acid prevent testicular apoptosis induced by cisplatin. Phytomedicine 18 (5): 356-361. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.07.008
35. Verma, S. K., Bjpai, G. C., Tewari, S. K., and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. Legume Resarch 28: 143-145.
36. Weerasekara, I., Sinniah, U. R., Namasivayam, P., Nazli, M. H., Abdurahman, S. A., and Ghazali, M. N. 2021. Priming with humic acid to reverse ageing damage in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.] seeds. Agriculture 11 (966): 1-18. https://doi.org/10.3390/agriculture11100966
37. Xiong, Z. T., Chao, L., and Bing, G. 2006. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. Ecotoxicology and Environmental Safety 64: 273-280. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.02.003
38. Yang, J., Zhang, J., Huang, Z., Zhu, Q., and Wang, L. 2000. Remobilization of carbon reserved is improved by controlled soil drying during grain filling of wheat. Crop Science 40: 1645-1655. https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4061645x